

CRÍA MASIVA DE TRIPS FITÓFAGOS ASOCIADOS CON EL CULTIVO DE
AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO

LEIDY YURANY SALAZAR LOPEZ

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
VILLAVICENCIO COLOMBIA
2019

CRÍA MASIVA DE TRIPS FITÓFAGOS ASOCIADOS CON EL CULTIVO DE
AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO

LEIDY YURANY SALAZAR LOPEZ

Tesis de grado como requisito parcial para obtener el título de ingeniero agrónomo

Director Científico

Dra. Damaris Desgarenes

Codirector

M. Sc. Harold Bastidas

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
VILLAVICENCIO – META
2019

Nota de aceptación

Dra. Damaris Desgarenes
Directora de tesis

M. Sc. Harold Bastidas
Codirector

I.A. Jorge Rangel
Jurado

I.A. Dalila Franco
Jurado

Villavicencio Meta, Mayo 2019

Dedico este trabajo con todo mi amor, y respeto

A mis padres:

A mi padre Nelson Salazar y a mi madre Diana López por el esfuerzo, el apoyo y el tiempo que siempre me han brindado durante toda mi vida, por los consejos y la inspiración que generaron en mí durante mi etapa académica.

A mis hermanos

Samuel y Sofía por ser la inspiración para ser mejor cada día.

A mi pareja

Manuel Hernández porque gracias a su colaboración conocí el lugar donde pude hacer parte de un gran proyecto y porque gracias a su apoyo y amor nunca faltó inspiración para lograr cumplir esta gran meta.

A toda mi familia

Por apoyarme y estar siempre a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial a mi directora de tesis la Dra. Damaris Desgarenes por permitirme hacer parte del proyecto, por su apoyo en cada fase del proceso, por su paciencia y por los valiosos conocimientos que me brindó durante el desarrollo de mi trabajo de grado.

A los doctores Gloria Carrión, Daniel López, al Ing. David Alarcon y a todo el grupo de laboratorio, quienes formaron parte de la investigación y generaron en mí nuevas enseñanzas y aportes para mi vida profesional.

Finalmente agradezco al Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) por permitir que estudiantes de licenciatura hagan parte de proyectos importantes a nivel nacional, facilitando la mejor tecnología y recursos para lograr estos proyectos de investigación.

A mi maestro el M. Sc. Harold Bastidas quien me apoyó desde mi institución educativa.

DECLARACIÓN

Excepto cuando es explícitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por Leidy Yurany Salazar López en el Laboratorio de la Planta Piloto de Desarrollo de Agentes de Control Biológico del Instituto de Ecología, A.C. en Xalapa, Veracruz, México; bajo la supervisión de la Dra. Damaris del Carmen Desgarenes Valido y el M. Sc. Harold Bastidas

Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato: Leidy Yurany Salazar López _____

Directora de tesis: Dra. Damaris Desgarenes _____

Codirector: M. Sc. Harold Bastidas _____

LISTA DE CONTENIDO

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
1. JUSTIFICACIÓN	16
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GENERAL	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
4. MARCO TEORICO	19
4.1. GENERALIDADES DEL AGUACATE	19
4.1.1. Origen y Distribución del Aguacate	19
4.1.2. Importancia del Aguacate a Nivel Mundial	19
4.1.3. Importancia del Aguacate en México	20
4.1.4. Importancia del Aguacate en Colombia	20
4.2. PLAGAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN EL CULTIVO DEL AGUACATE	21
4.3. TRIPS	21
4.3.1. Ciclo de vida	22
4.3.2. Daños ocasionados por los trips	24
4.3.3. Criaderos	24
5. METODOLOGÍA	26
5.1. COLECTA DE TRIPS	27
5.2. FACTOR A EVALUAR	30
5.2.1. Establecimiento de criaderos	30
5.3. DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS	30
5.3.1. Evaluación jaula tipo 1 con tres fuentes de alimentación	31
5.3.2. Evaluación jaula tipo 2 con una fuente de alimentación	34
5.3.3. Evaluación jaula tipo 3 con una fuente de alimentación	36
5.3.4. Evaluación jaula tipo 4 con una fuente de alimentación	37

5.3.5. <i>Evaluación jaula tipo 5 con una fuente de alimentación</i>	39
5.4. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA	40
5.5. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR	43
5.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	44
5.7. MODELO ESTADÍSTICO	44
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
6.1. FASE 1. SELECCIÓN DE JAULA Y FUENTE DE ALIMENTO	45
6.2. FASE 2. CRÍA MASIVA DE TRIPS.	49
6.3. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE INSECTOS EN CRIADERO	57
7. CONCLUSIONES	58
8. RECOMENDACIONES	59
9. BIBLIOGRAFIA	60
10. ANEXOS	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tipo de Jaula y fuente de alimentación.	26
Tabla 2. Ubicación de huertos y variedades de aguacate cultivadas.	27
Tabla 3. Prueba Fuentes de Alimento	48
Tabla 4 Prueba inicial con ejotes	49
Tabla 5.Jaulas con población inicial de adultos.....	51
Tabla 6. Jaulas con población inicial de ninfas.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Bolsa plástica para la colecta de material vegetal con trips.....	28
Figura 2. Muestra de flores de aguacate.....	29
Figura 3. Flor de aguacate revisada en estereoscopio.....	29
Figura 4. Herramientas para revisar flores, estereoscopio, pincel y aguja.....	30
Figura 5. Botes utilizados como Jaula 1.....	31
Figura 6. Pellets hechos con solución 1:10 de miel virgen y agua.....	32
Figura 7. Tres pellets por cada jaula.	32
Figura 8. Fragmentos de ejote puestos en jaula.	33
Figura 9. Frijol recién germinado, hoja de toalla absorbente, esponja.....	33
Figura 10. Planta de frijol como debe estar dentro del bote.	34
Figura 11. Botes utilizados como Jaula 2.....	35
Figura 12. Plántulas de frijol en un sustrato de peat moss y vermiculita 2:1	36
Figura 13. Botes utilizados como jaula 3.....	37
Figura 14. Bote utilizado como jaula 4	38
Figura 15. Elementos de una Jaula tipo 5.	39
Figura 16. Bote utilizado como jaula tipo 5.....	39
Figura 17. Jaula tipo 5 con 3 fragmentos de ejote.....	40
Figura 18. Tubos con alcohol al 70%	41
Figura 19. Elementos requeridos para el montaje de trips en capsulas de porcelana.	41
Figura 20. Portaobjetos con gota de bálsamo de Canadá.....	42
Figura 21. Portaobjeto debidamente etiquetado.....	42
Figura 22: Prueba Fuentes de Alimento.....	48
Figura 23: Prueba de ejotes.....	50
Figura 24: Interpretación de los datos Jaula 1 de Adultos.	51
Figura 25. Interpretación de los datos Jaula 2 de Adultos.	52
Figura 26. Interpretación de los datos Jaula 3 de Adultos.	52
Figura 27. Interpretación de los datos Jaula 4 de Adultos.	53
Figura 28. Interpretación de los datos Jaula 5 de Adultos.	53
Figura 29. Interpretación de los datos Jaula 1 de Ninfas.....	54
Figura 30. Interpretación de los datos Jaula 2 de Ninfas.....	55
Figura 31. Interpretación de los datos Jaula 3 de Ninfas.....	55
Figura 32. Interpretación de los datos Jaula 4 de Ninfas.....	56
Figura 33. Interpretación de los datos Jaula 5 de Ninfas.....	56

LISTA DE ANEXOS

Anexo A: Ciclo biológico de trips.....	64
--	----

RESUMEN

En el laboratorio de la Planta Piloto de Desarrollo de Agentes de Control Biológico, en el Instituto de Ecología (INECOL), ubicado en Xalapa, Veracruz, México, se desarrollan investigaciones en el control de poblaciones de trips. En el desarrollo de estas investigaciones se requiere disponer de trips en diferentes estados de desarrollo. El proyecto implementa un método de cría masiva en condiciones controladas, en el cual se puedan evaluar fuentes de alimentos, reproducción y caracterización morfológica y molecular.

La cría masiva de trips se realiza mediante la captura de adultos. El muestreo se realizó en once huertos de aguacate ubicados en tres municipios del estado de Michoacán y dos huertos en un municipio del estado de Veracruz.

La obtención de crías de trips en condiciones controladas se evaluó en cinco sistemas con diferentes fuentes alimentación y/u oviposición. Los resultados mostraron que la población de trips se reproduce adecuadamente dentro de ejotes y permite realizar el conteo exacto de larvas y adultos.

Con base en los resultados de la cría, se caracterizó a nivel morfológico y molecular las especies presentes en los criaderos luego de la quinta generación, encontrando que la técnica tuvo resultados favorables únicamente para la crianza de *Frankliniella gardeniae*.

La mejor fuente de alimentación fueron los ejotes donde los trips se reprodujeron. En las dietas con pellets, germinados de frijol, plántulas de frijol, polen y pepino, la reproducción fue nula o muy baja.

ABSTRACT

In the laboratory of the Pilot Plant for the Development of Biological Control Agents, at Institute of Ecology (INECOL), located in Xalapa, Veracruz, Mexico, researching on thrips biocontrol are carried out. To develop this researching, it is necessary to have thrips in different life cycle stages. This project implements a method of mass rearing under controlled conditions, in which the food sources, oviposition substrate, and morphological and molecular characterization of reared thrips were assessed.

The mass rearing of thrips was done by capturing adults. Sampling was carried out once in the municipalities of Michoacán State and two orchards in one municipality in Veracruz State.

Five systems with different food and/or oviposition sources were assessed to obtain thrips offspring in controlled conditions. Our results showed that the thrips reproduced efficiently in green pods, and that this method allows to realize the exact count of larvae and adults.

Based on the observed results, the thrips species present in the breeding cages after the fifth generation, were morphologically and molecularly characterized. We found that the rearing method used was favorable only for *Frankliniella gardeniae* rearing.

The best food source was green beans, since the thrips were mass reared. In the diets with pellets, bean sprouts, bean seedlings, pollen and cucumber, rearing was very low or nule.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de aguacate es considerado como uno de los mercados internacionales con más auge en los últimos años, con un crecimiento promedio anual de 2.3%. Sin embargo, para mantener la competitividad y calidad del fruto se deben tener en cuenta que existen diferentes problemas fitosanitarios en el cultivo del aguacate. Uno de los principales problemas es generado por la plaga de los trips, debido a que afecta brotes vegetativos, inflorescencias y frutos en formación. El control de estos insectos se realiza principalmente con agentes químicos. No obstante, la alta tasa de reproducción, el carácter polífago y la generación de resistencia en los trips hacen del control químico una estrategia poco eficiente.

Las alternativas amigables con el medio ambiente es otra opción para el manejo de esta plaga, si bien, se deben evaluar diferentes microorganismos como agentes de biocontrol. A pesar de obtener un alto número de insectos en campo, se dificulta la evaluación de agentes de biocontrol debido a que no se conoce su edad y pureza.

La captura de trips de manera aleatoria no proporciona datos sobre la edad exacta de los especímenes y de la pureza genética de la población. No obstante, a nivel de laboratorio se tiene la capacidad para producir el número necesario de trips para la investigación, aunque los ejemplares vivos o no preparados (en montaje) no son de fácil diferenciación.

El presente trabajo tuvo como objetivo implementar la cría masiva de trips en laboratorio, para obtener suficientes larvas y adultos que pudieran ser utilizarlos en estudios posteriores en laboratorio. Para lograr el objetivo, se modificaron y evaluaron los métodos de Murai e Ishii (1982), Steiner y Goodwin (1998), DeGraaf y Wood (2009), quienes utilizaron diversas fuentes de alimentación como semillas de haba, plantas de frijol, pepino, polen, debido a su alta disponibilidad y bajo costo. Esos métodos permiten obtener suficientes larvas y adultos para realizar estudios experimentales en laboratorio.

Los mejores métodos y técnicas para la realización de preparaciones microscópicas para identificar los trips deben tener en cuenta dos criterios: las apropiadas para realizar identificaciones rutinarias rápidas y las utilizadas en investigaciones de carácter taxonómico que pasan a ser parte de una colección entomológica (Mound and Kibby, 1998). En la identificación taxonómica también se utilizan técnicas moleculares que, en este caso, corresponden al protocolo descrito por Rugman-Jones et al. (2006) y el protocolo descrito por Glover et al. (2010).

1. JUSTIFICACIÓN

En el cultivo de Aguacate, una de las principales plagas consideradas de importancia económica son los trips, debido a que afecta considerablemente brotes vegetativos, inflorescencias y frutos en formación; disminuyendo su calidad y limitando su exportación. El control de estos insectos se realiza principalmente con agentes químicos, sin embargo, los trips tienen la capacidad de desarrollar rápidamente resistencia a plaguicidas. Además, la alta residualidad de algunos productos compromete la inocuidad de los frutos.

Desde esta perspectiva resulta interesante evaluar alternativas efectivas y amigables con el ambiente, como el uso de microorganismos que funcionen como agentes de biocontrol de los trips. Una de las limitantes para la evaluación de dichos agentes suele ser el número, edad y pureza de los insectos utilizados en los procesos de validación de los agentes de biocontrol. Esto se debe a que los insectos utilizados en este tipo de ensayos generalmente son colectados en campo, lo que disminuye la certeza en la edad y pureza de los mismos.

Es por esto que la presente investigación busca establecer un método de cría masiva de insectos del orden Thysanoptera. En específico, desarrollar un método con el que se puedan obtener suficientes insectos en el laboratorio, de edad homogénea y libres de contaminación para realizar futuros ensayos que ayuden a encontrar y/o validar el uso de agentes de biocontrol, sin tener la necesidad de coleccionar trips en campo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un método de cría masiva de trips en condiciones controladas como fuente de material de investigación en el laboratorio de agentes biológicos del INECOL.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de cinco tipos de jaulas para la cría masiva de trips en confinamiento.
- Evaluar el efecto de cinco fuentes de alimento sobre la oviposición de trips criados en cautiverio.
- Caracterizar morfológica y molecularmente los trips criados en cautiverio para conformar el banco de especies de trips.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la importancia que han tenido en los últimos años los trips como una de las plagas principales en el cultivo de aguacate en México, se han propuesto diversos ensayos con estos insectos para conocer diversos aspectos biológicos relacionados con sus hábitos alimenticios y su ciclo de vida, así como para la evaluación de métodos de control químico o biológico. Para realizar estos ensayos es necesario mantener en laboratorio poblaciones de trips con un elevado número de individuos de procedencia y edad conocida. Sin embargo, la cría en laboratorio plantea dificultades por el reducido tamaño de los trips y por su comportamiento, lo que hace difícil el manejo y seguimiento de los criaderos.

El laboratorio al no contar con una población exacta de individuos para ensayos posteriores, requiere de investigación relacionada con fuentes de alimento y oviposición para crear un espacio adecuado de reproducción con el fin de que estos individuos puedan ser identificados morfológica y molecularmente.

4. MARCO TEORICO

4.1. GENERALIDADES DEL AGUACATE

4.1.1. *Origen y Distribución del Aguacate*

El aguacate (*Persea americana*) forma parte de la familia botánica Lauraceae y tiene su centro de origen en América, con una distribución natural que va desde México hasta Perú, pasando por Centroamérica, Colombia, Venezuela y Ecuador. Se considera que la especie que dio origen al aguacatero comercial proviene de la zona montañosa situada en el occidente de México y Guatemala. Este fruto se produce en los cinco continentes, en países tropicales y subtropicales. Los mayores cultivos se encuentran en México, República Dominicana, Chile, Estados Unidos, Colombia, Perú, Brasil y Guatemala, entre otros (Bernal et al., 2014).

4.1.2. *Importancia del Aguacate a Nivel Mundial*

En los últimos años se ha observado un impulso en la demanda del aguacate en los mercados internacionales lo que ha elevado su producción. Entre el año 2000 y 2010, la producción del fruto pasó de las 907,000 a 1,107,000 toneladas, es decir, un crecimiento promedio anual de 2.3% (El Financiero, 2017).

A partir de 2011 y hasta 2015 –último año que se tiene registro- la producción de aguacate mantuvo una dinámica de 8.3% promedio anual, al pasar de 1,264,000 toneladas a 1,644,000, impulsado en gran parte por la demanda externa (El Financiero, 2017).

México es el exportador de aguacate número uno del mundo. Estados Unidos de América es el principal importador de dicho fruto, seguido por Países Bajos, Francia, Japón y Canadá (SAGARPA, 2015). Además, la importancia de este cultivo se basa en el consumo en fresco y por su forma de prepararse en “guacamole” y otras que, con el paso del tiempo, han tomado fama de la cocina mexicana para el mundo.

4.1.3. Importancia del Aguacate en México

México es el principal productor de aguacate en el mundo, generando el 30.9% de la producción mundial (SAGARPA & SIAP, 2017). Lo que, sólo en 2017, representó 1,997,629 toneladas del fruto, las cuales fueron exportadas principalmente a Norte, Centro y Suramérica, así como a Europa, Asia y Australia, generando ingresos por más de 2,710,000,000 de dólares (SAGARPA, 2018). Dentro del país, Michoacán es el estado con mayor producción de aguacate (1,477,263 toneladas), contando con cultivos en 42 municipios, aunque sólo seis de ellos generan el 79% del total producido: Uruapan, Tancítaro, Peribán, Tacámbaro, Ario y Salvador Escalante (SIAP, 2009; SAGARPA & SIAP, 2017).

4.1.4. Importancia del Aguacate en Colombia

El aguacate es el sexto producto agrícola de exportación después del café, el banano, las flores, el aceite de palma y el azúcar (aunque estos dos últimos tienen un componente industrial).

El aguacate Hass se posiciona como uno de los cultivos con mayor potencial de crecimiento a nivel nacional. La amplia disponibilidad de zonas aptas para el cultivo, con la demanda insatisfecha en los mercados internacionales; la tendencia mundial hacia un mayor consumo de este producto por sus propiedades organolépticas, vitaminas y minerales, son algunas de las ventajas que presenta la producción de esta fruta para Colombia.

El consumo mundial de aguacate crece alrededor de 3% cada año; sin embargo, la producción no avanza al mismo ritmo, sino a un paso más lento, lo que implica una ventana de oportunidad para Colombia. Los cultivadores y comercializadores, agremiados en Corpohass, creen que este año las exportaciones pueden llegar a 50,000,000 de dólares y que en el futuro el aguacate incluso podría llegar a reemplazar a las flores en términos de importancia (DINERO, 2017).

4.2. PLAGAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN EL CULTIVO DEL AGUACATE

Por las condiciones que presenta el aguacate como monocultivo, los daños de plagas y enfermedades en pre y postcosecha afectan la calidad del aguacate, y con ello su producción y comercialización

Desde la floración hasta su cosecha, el aguacate es atacado por una diversidad de plagas, entre las de mayor importancia están: araña roja (*Olygonychus punicae*), barrenador pequeño de la semilla (*Conotrachelus perseae*), barrenador de troncos y ramas (*Copturus aguacatae*), araña cristalina (*Oligonychus perseae*), gusano telarañero, nematodos ácaros y trips (*Scirtothrips perseae*) (Bisonó & Hernández, 2008). De estas plagas de importancia económica, se abordan únicamente los trips, debido a la demanda de alternativas de control y por ende de investigación.

4.3. TRIPS

Los trips son un grupo de insectos pequeños del orden Thysanoptera, cuyo tamaño oscila entre 0.5 y 15 mm, muchos de ellos asociados a flores y follajes (Morales, 2007). El orden Thysanoptera se divide en dos subórdenes: Terebrantia cuyo nombre se deriva de la presencia de un ovipositor en forma de terebra o sierra en las hembras, y Tubulifera cuyas hembras carecen de ovipositor y presentan el décimo segmento abdominal en forma tubular (Stannard, 1968).

A nivel mundial están descritas aproximadamente 5,500 especies de trips en 759 géneros y 9 familias, de todas ellas, el suborden Terebrantia comprende 8 familias, mientras que el suborden Tubulifera solamente comprende una familia, es decir, la familia Phlaeothripidae. En las últimas tres décadas, los trips se han convertido en la mayor plaga a nivel mundial de muchos cultivos agrícolas, hortícolas y ornamentales, siendo el género *Frankliniella* el más grande dentro de la familia Thripidae (Rugman et al., 2010).

En México se han registrado 600 especies de trips, que pertenecen principalmente al orden Terebrantia (Johansen & Mojica, 1996). No obstante, son sólo seis las especies consideradas como plagas importantes en el cultivo de aguacate: *Frankliniella bruneri* (Watson), *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché), *Scirtothrips perseae* (Nakahara), *Scirtothrips aguacatae* (Johansen y Mojica), *Scirtothrips kupandae* (Johansen y Mojica) y *Pseudophilothrips perseae* (Watson).

4.3.1. Ciclo de vida

La reproducción de los trips es generalmente anfigónica; esto es, con la participación de ambos sexos. No obstante, es frecuente la partenogénesis, que en algunas especies constituye el único modo de reproducción. En la partenogénesis las hembras son diploides y los machos haploides (Lewis, 1976; Bañon et al., 1993). Los machos se desarrollan sólo a partir de huevos no fertilizados y las hembras a partir de huevos fertilizados. El dimorfismo sexual se expresa comúnmente en especies de Thripidae a través del pequeño tamaño corporal de los machos en comparación con las hembras, ésta diferencia se asocia con la estructura de reproducción (Mound & Marullo, 1996). Los trips son insectos con metamorfosis completa que en el transcurso de su vida pasan por las etapas de: huevo, larva, pupa y adulto (Lewis, 1973). Las larvas difieren considerablemente de los adultos tanto en su forma como en su estructura, pues el aparato bucal y algunos apéndices cambian de forma y función (Coronado & Márquez, 1976). El ciclo de vida de la mayoría de las especies de trips se completa alrededor de tres semanas, pero esto depende de las condiciones ambientales, principalmente de la temperatura, humedad relativa y de la alimentación. (Bryan & Smith, 1956; Bañon et al., 1993; Lacasa, 1998). A continuación, se describen cada una de las etapas del ciclo de vida de los insectos tisanópteros (Ver anexo A):

Huevo. El huevo es oval o alargado, adoptando diferentes formas según las especies, de dimensiones variables entre 0.2 y 0.3 mm (Lino et al., 1998).

Larva: Hay dos estados o instares larvales, en los cuales los individuos se mueven y alimentan de forma similar. El primer instar larval tiene cabeza, tres segmentos torácicos y 11 segmentos abdominales, carece de ocelos, los ojos compuestos poseen solamente de 3 a 4 facetas y presentan menos segmentos antenales que en el estado adulto. (Lewis, 1968). En el segundo instar las larvas son generalmente más pequeñas que en el primer instar, pero durante este estadio alcanzan el tamaño de la población adulta. Cuando la larva del segundo instar está completamente desarrollada, está lista para entrar en la fase de reposo o pupa (Lewis, 1976).

Pupa: Antes de la pupa, existe una etapa intermedia entre la larva y la pupa verdadera llamada prepupa, donde los brotes de las alas son visibles tanto en los Terebrantia como en los Tubulifera, las antenas aparecen como vainas cortas con segmentación indistinta. En el estado de pupa, no se alimentan ni excretan y al final de la muda emerge el adulto (Lewis, 1976). Al entrar en esta etapa, pueden permanecer en el mismo lugar donde se desarrolló la larva o pueden buscar un lugar protegido dentro de la planta; puede descender o dejarse caer al suelo para penetrar en él o esconderse entre los restos vegetales para pupar (Lino et al., 1998).

Adulto: El color de los trips es variable, van desde colores claros a oscuros, miden de 1.7 a 2 mm de longitud (Lino et al., 1998). La cabeza de los adultos generalmente es de forma cuadrangular con un par de ojos compuestos. Presentan tres ocelos. Tienen un par de antenas generalmente de siete u ocho segmentos. Estas antenas se encuentran articuladas en la parte frontal de la cabeza, frente a los ojos compuestos. Poseen un aparato bucal único en el cual las piezas bucales están adaptadas para picar y succionar. Las alas son angostas, membranosas y presentan pocas venas o estas pueden estar ausentes y raramente presentan venas transversales. Las alas se caracterizan por llevar un fleco marginal de sedas. El abdomen es alargado, compuesto por 10 segmentos bien desarrollados (Johansen & Mojica, 1996).

4.3.2. Daños ocasionados por los trips

La presencia y alta incidencia de trips en el cultivo de aguacate está ligada a las épocas de floración de la planta y se ve favorecida por temperaturas elevadas y la baja humedad del ambiente. Generalmente las temperaturas en las que completan su ciclo biológico van desde los 15°C a los 30°C (Bryan y Smith, 1956; Bañon et al., 1993; Lacasa, 1998). Como consecuencia de la actividad biológica de los trips se originan diversos daños en el cultivo, los cuales pueden ser directos, relacionados con su alimentación y reproducción, e indirectos como la transmisión de virus y el favorecimiento de la entrada de patógenos como el hongo *Sphaceloma perseae* (Vásquez, 2013).

Los daños asociados con los trips son ocasionados en órganos de tejido suave, jóvenes o en su fase de crecimiento, lo que incluye inflorescencias, brotes florales, foliares y frutos de reciente formación. Estos tejidos se ven afectados como consecuencia de la alimentación de ninfas y adultos, los cuales al succionar el contenido celular de los tejidos producen el necrosamiento, deformación y atrofia de las diferentes estructuras. Del mismo modo, la oviposición realizada por los trips causa lesiones, como agallas o abultamientos, debido a la incrustación de los huevecillos en el tejido vegetal. Estas lesiones pueden ocasionar desde deformaciones hasta alteraciones en el proceso de fecundación y formación de los frutos, provocando protuberancias o crestas en la superficie del pericarpio, las cuales se vuelven evidentes en los frutos maduros (González et al. 2000).

En general, los daños ocasionados por los trips afectan considerablemente la cantidad y calidad del fruto, lo que reduce su valor comercial y limita su exportación.

4.3.3. Criaderos

Los trips han adquirido cada vez mayor importancia como plaga primaria no solo en México, sino en la mayoría de los países productores de aguacate (González et al,

2000). Debido a esto, han sido objeto de numerosos estudios sobre su ciclo de vida, comportamiento, adecuación a la planta huésped, interacciones con enemigos naturales y su papel en la transmisión de virus y otros patógenos. Para lograr estos fines, es necesario contar con criaderos de trips en condiciones controladas o de laboratorio que provean cierto número de insectos, de hecho, se han desarrollado varios métodos para la cría de trips pero en cantidades relativamente bajas. Sin embargo, para otro tipo de objetivos, como la búsqueda y evaluación de insecticidas o de enemigos naturales, es necesaria la cría masiva de trips para abastecer los requerimientos de los diferentes experimentos (Lewis, 1973; Loomans & Murai, 1997).

Para la cría masiva de trips se debe tener en cuenta el equipo técnico para asegurar un ambiente confiable de tal manera que no sea un problema para el mantenimiento de las crías. Otro parámetro que se debe considerar es el tipo de sustrato de alimentación, ya que los hospederos naturales preferidos pueden no ser el alimento más conveniente para la cría de insectos. Estos aspectos son muy importantes para mantener un control de calidad de los insectos y evitar o disminuir la contaminación por bacterias, hongos e insectos ajenos a las crías. Es importante señalar que muchas especies de trips son difíciles de criar en laboratorio ya que tienen una tendencia a escapar de las cajas donde se encuentran confinados; además, son insectos muy pequeños, frágiles, difíciles de manipular, de transportar y por lo tanto de criar en cautiverio (Lewis, 1973).

5. METODOLOGÍA

La investigación es de carácter exploratorio y se desarrolla en tres fases secuenciales: la colecta de trips, la evaluación de las jaulas con diferentes fuentes de alimentación y la caracterización de trips.

En la investigación se evaluaron cinco tipos de jaulas y en cada una se evaluó una fuente de alimentación diferente: pellets de miel, agua y alginato; trozos azucarados de ejotes, frijol germinado, plántula de frijol en sustrato, polen y pepino (Tabla 1).

Tabla 1. Tipo de Jaula y fuente de alimentación.

Tipo de Jaula	Fuente de alimento		
	1	2	3
Jaula tipo 1	Pellets de miel, agua y alginato	Trozos azucarados de ejotes	Frijol germinado (8 días de germinado)
Jaula tipo 2	Plántula de frijol en sustrato		
Jaula tipo 3	Polen		
Jaula tipo 4	Pepino		
Jaula tipo 5	Ejotes		

Los datos colectados de la evaluación de los tipos de jaula y fuentes de alimentación se procesaron mediante el análisis exploratorio de datos, seleccionando aquella jaula que presentara mejores promedios de cría y reproducción.

El ensayo para la cría masiva de trips utiliza un Diseño Completamente al Azar que valora la cantidad de individuos que sobrevive o se reproduce en el tipo de jaula y fuente de alimentación seleccionada.

5.1. COLECTA DE TRIPS

Los insectos a partir de los cuales se establecieron los criaderos fueron colectados en once huertos de aguacate ubicados en tres municipios del estado de Michoacán y dos huertos en un municipio del estado de Veracruz (Tabla 1). Los tres municipios ubicados en Michoacán fueron: 1) Taretan que cuenta con un clima generalmente cálido y templado, con una temperatura media anual de 22.8°C y una precipitación anual promedio de 1121mm; 2) Tingambato cuyo clima se clasifica como cálido y templado, su temperatura media anual es de 16.4°C y la precipitación anual promedio es de 1127 mm/año y 3) San Juan Nuevo con un clima templado y cálido, una temperatura media anual de 16.8°C y una precipitación anual promedio de 1343mm. El municipio localizado en el estado de Veracruz es Xico, donde el clima es cálido y templado, con una temperatura media anual de 18.8 °C y una precipitación anual promedio de 1875mm (Tabla 2).

Tabla 2. Ubicación de huertos y variedades de aguacate cultivadas.

Michoacán			
Municipio	Huerto	Altitud	Variedad
Taretan	La mesa 4	1529	Hass-Méndez
	Loma bonita 2	1533	Hass-Méndez
	La mesa 3	1543	Hass-Méndez
Tingambato	El camino	1954	Hass-Méndez
	El camino 3	1953	Hass
	La escondida 12	1953	Méndez
	El zapote	1914	Hass-Méndez
San Juan Nuevo	Los diamantes	2339	Hass
	La huerta del pico	2347	Méndez
	La isla	2334	Hass
	Magaño	2326	Hass

Veracruz			
Municipio	Huerto	Altitud	Variedad
Xico	Arroyo seco	1784	Méndez
	El clavito	1542	Méndez

Los insectos fueron colectados una vez al mes en cada uno de los huertos del estado de Michoacán y cada 15 días en los huertos del estado de Veracruz. La colecta se realizó en árboles que fueron previamente marcados y georreferenciados. De cada árbol se tomaron flores (preferiblemente abiertas) o brotes tiernos que fueron almacenados en botes de plástico con malla antitrips o en toalla de papel, para eliminar exceso de humedad, y bolsa con cierre hermético; cada bolsa tiene un rotulo que identifica el árbol, la fecha y el huerto (Figura 1). Una vez en el laboratorio, las flores y brotes fueron revisados detalladamente; con ayuda de un estereoscopio se extrajeron los trips y se colocaron en jaulas (Figuras 3-4).

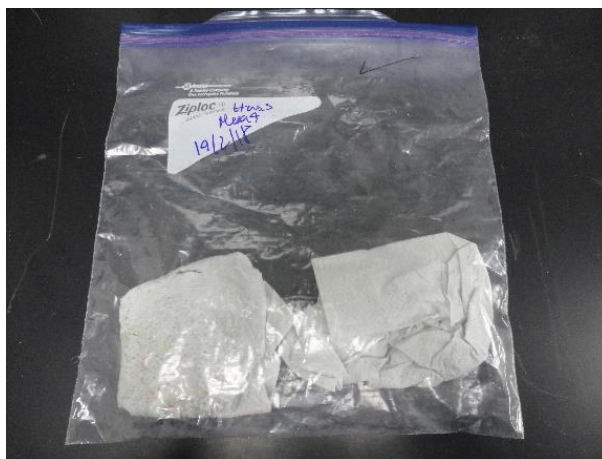


Figura 1. Bolsa plástica para la colecta de material vegetal con trips.



Figura 2. Muestra de flores de aguacate.



Figura 3. Flor de aguacate revisada en estereoscopio.

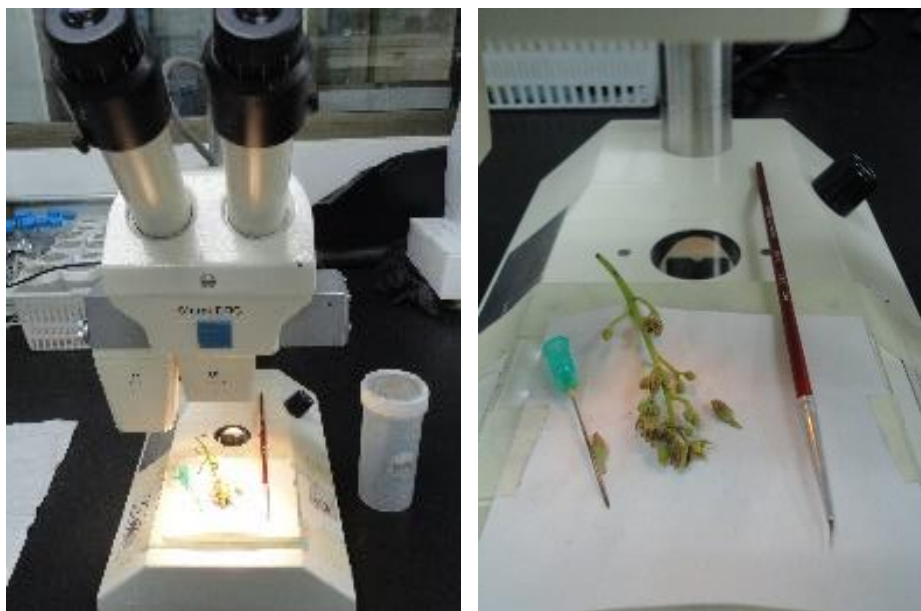


Figura 4. Herramientas para revisar flores, estereoscopio, pincel y aguja.

5.2. FACTOR A EVALUAR

5.2.1. Establecimiento de criaderos

Para la obtención de crías de trips en condiciones controladas con diferentes fuentes alimentación y/u oviposición, se evaluaron cinco sistemas de acuerdo con lo registrado en la literatura. Para esto se fabricaron cinco diferentes tipos de jaulas, en función de la fuente de alimento utilizada.

5.3. DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS

En todos los casos, las jaulas fueron revisadas diariamente para observar si el manejo de las condiciones ambientales y las fuentes de alimento fueron las adecuadas, así como para realizar algún ajuste a la metodología empleada si fuera necesario.

5.3.1. Evaluación jaula tipo 1 con tres fuentes de alimentación

Se utilizarán botes de plástico de 10 cm de altura y 5 cm de diámetro, a los cuales se les abrió un agujero de 3.5 cm de diámetro en tapa y dos agujeros en los lados de 1 cm a los cuales se les colocó malla antitrips para generar ventilación y evitar el exceso de humedad dentro de la jaula (Figura 5). Con estos botes se evaluaron tres fuentes de alimentación.

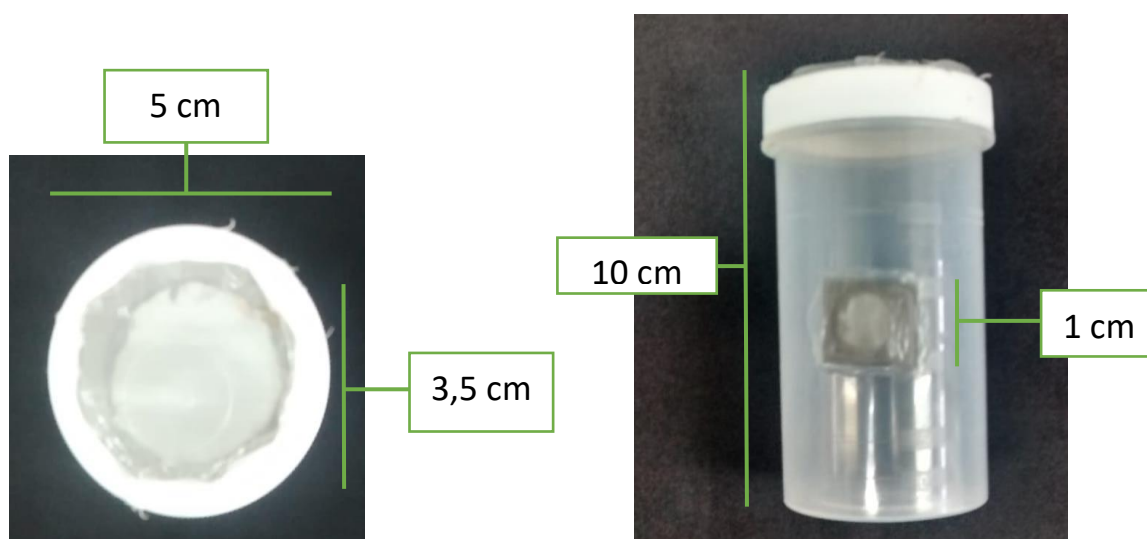


Figura 5. Botes utilizados como Jaula 1.

La primera fuente de alimentación utilizada fueron pellets, hechos a partir de una solución 1:100 de miel pura y agua a la que se le adicionaron 3.16 g de alginato, luego esta solución fue dosificada en gotas con ayuda de una jeringa en una solución de cloruro de calcio para gelificar los pellets (Figura 6), en cada jaula se colocaron tres pellets (Figura 7).



Figura 6. Pellets hechos con solución 1:10 de miel virgen y agua.

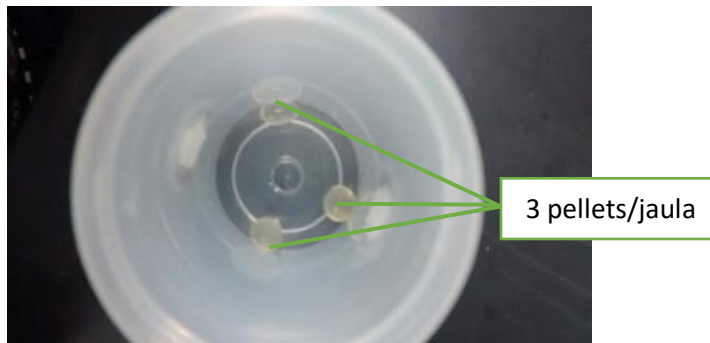


Figura 7. Tres pellets por cada jaula.

La segunda fuente de alimentación fueron ejotes cortados en trozos de 6 cm, los cuales fueron previamente remojados en agua durante 15 minutos, desinfectados en agua más cloro 2% durante 5 minutos, enjuagados y finalmente sumergidos en solución azucarada 5%, se colocaron dos fragmentos de ejotes por jaula (Figura 8).



Figura 8. Fragmentos de ejote puestos en jaula.

La tercera fuente de alimentación fueron plántulas de frijol ejotero Strike recién germinadas colocadas sobre espuma de polipropileno (Figura 9) la cual fue humedecida cada dos días con el fin de mantener la humedad para que la planta se siguiera desarrollando, cuando la planta estuvo con los cotiledones abiertos se insertaron los trips para que estos se alimentaran de tejido vegetal tierno (Figura 10).



Figura 9. Frijol recién germinado, hoja de toalla absorbente, esponja.



Figura 10. Planta de frijol colocada en el interior del bote.

5.3.2. Evaluación jaula tipo 2 con una fuente de alimentación

Se utilizaron 2 botes de plástico, uno de 14.5 cm de altura al cual se le hizo un orificio de 8cm x 5cm que se cubrió con malla antitrips con el fin de generar ventilación y evitar el exceso de humedad dentro de la jaula y otro de 8 cm de altura, además cuentan con un diámetro en la base de 8.5 cm y 11.5 cm diámetro en la tapa (Figura 11).

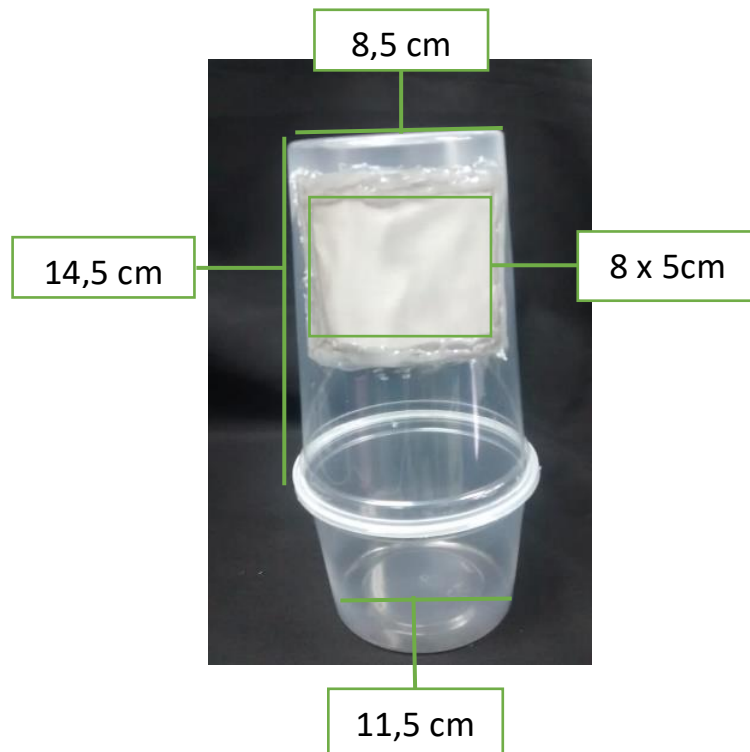


Figura 11. Botes utilizados como Jaula 2

Como fuente de alimentación se colocaron semillas de frijol ejotero Strike en sustrato previamente preparado y esterilizado de peat moss y vermiculita 2:1 en la jaula (Figura 12) con el objetivo que la planta se desarrolle conforme a la medida de la jaula y llegue a su fase de floración para poder colocar los trips y lograr su reproducción en las flores.



Figura 12. Plántulas de frijol en un sustrato de peat moss y vermiculita 2:1

5.3.3. Evaluación jaula tipo 3 con una fuente de alimentación

Se utilizaron botes de plástico de 14.5 cm de altura, el cual fue perforado con un orificio de 8 cm x 5 cm que será cubierto con malla antitrips, además el bote cuenta con un diámetro de 8.5 cm en la base y 11.5 cm de diámetro en la tapa (Figura 13).



Figura 13. Botes utilizados como jaula 3.

Estas jaulas se utilizaron para evaluar el polen de abeja como fuente de alimentación. En cada una de las jaulas se colocaron 2 g de polen sobre papel absorbente humedecido.

5.3.4. Evaluación jaula tipo 4 con una fuente de alimentación

Se utilizó un bote de plástico de 15 cm de altura, 10 cm de ancho y 31 cm de largo el cual fue perforado con un orificio de 9 cm x 23 cm que fue cubierto con malla antitrips. Además el bote cuenta con una tapa a la cual se le perforaron 2 agujeros de 9 cm x 9 cm que fueron cubiertos con malla antitrips con el fin de generar ventilación y evitar el exceso de humedad dentro de la jaula (Figura 14).

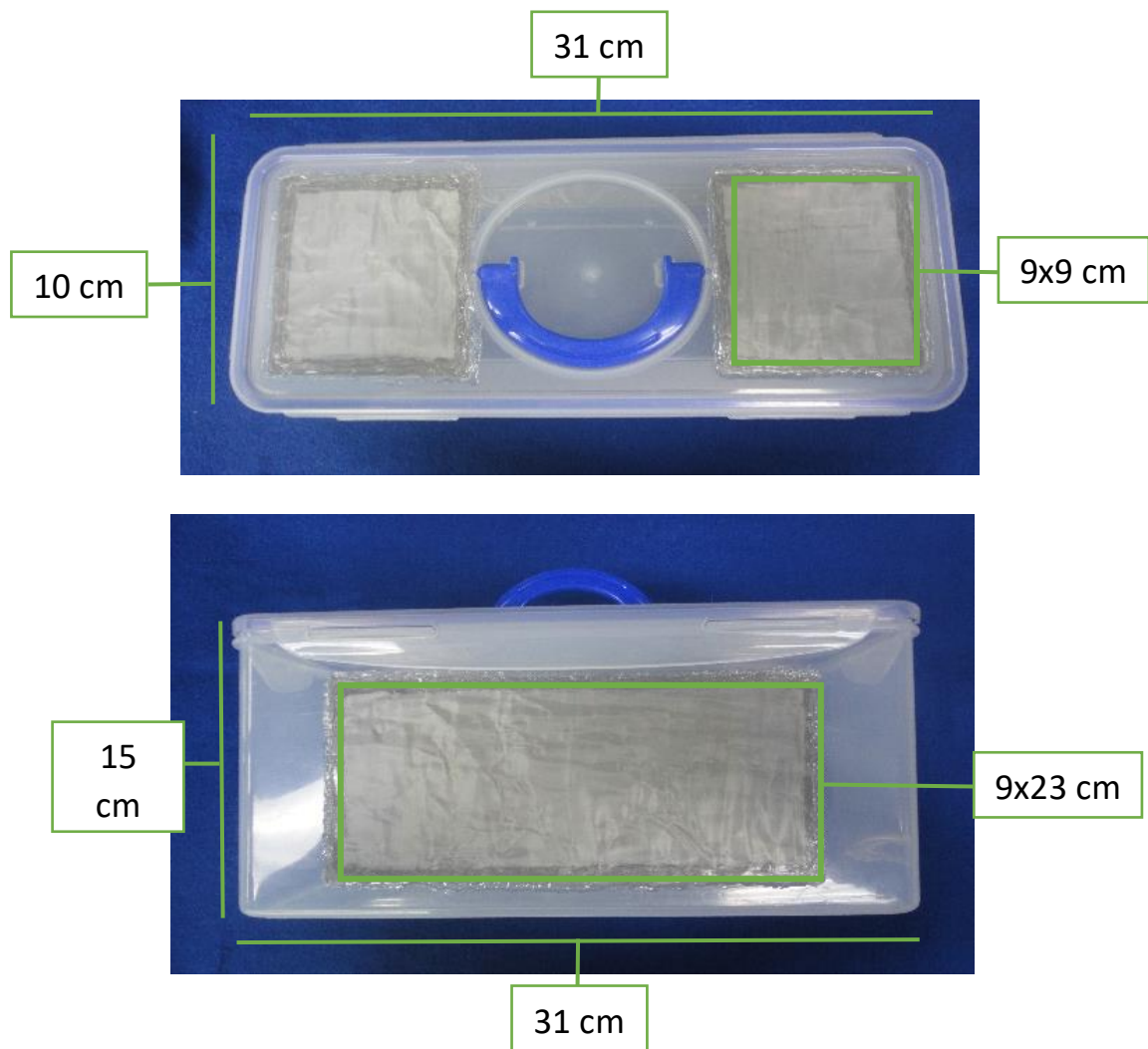


Figura 14. Bote utilizado como jaula 4

En la jaula 4 se realizó una mezcla de fuentes de alimento, solución de polen y agua 2:1, polen granulado y pepino (Figura 15)

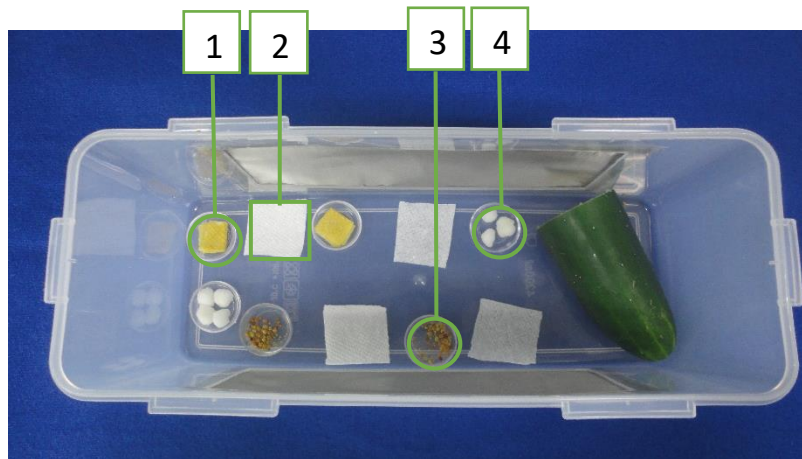


Figura 15. Elementos de una Jaula tipo 5.

1. Toalla de papel humedecida con solución de polen, 2. Toalla de papel, 3. Polen granulado, 4. Algodón humedecido.

5.3.5. Evaluación jaula tipo 5 con una fuente de alimentación

Se utilizaron botes de plástico de 16 cm de altura y 11 cm de diámetro, a los cuales se les abrió un agujero en la tapa de 8 cm de diámetro y se le colocó malla antitrips para generar ventilación y evitar el exceso de humedad dentro de la jaula (Figura 16).

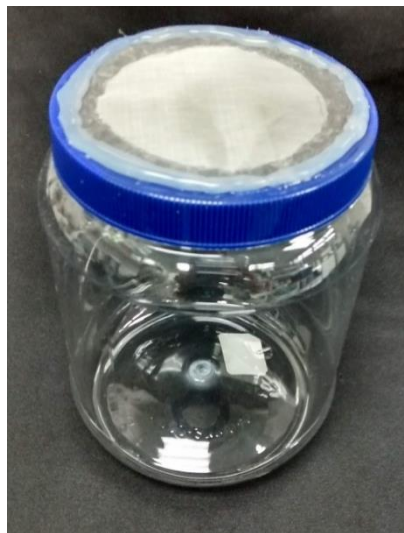


Figura 16. Bote utilizado como jaula tipo 5

En la jaula tipo 5 se utilizaron trozos de ejote, los cuales fueron previamente remojados en agua durante 15 minutos, desinfectados en agua más cloro 2% durante 5 minutos, enjuagados y finalmente sumergidos en solución azucarada 5%, se colocaron 3 fragmentos de ejotes por jaula (Figura 17).



Figura 17. Jaula tipo 5 con 3 fragmentos de ejote.

5.4. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Se colectaron trips de los criaderos previamente establecidos, los insectos fueron colectados en tubos con alcohol al 70% y debidamente etiquetados (Figura 18).



Figura 18. Tubos con alcohol al 70%

La muestra fue colocada en una cápsula de porcelana y con ayuda de un pincel los insectos fueron pasados a través de alcohol al 96% donde permanecieron 20 minutos, posteriormente se colocaron en alcohol absoluto durante 10 minutos y finalmente se pusieron los ejemplares en xileno de 2 a 5 minutos dependiendo de la pigmentación del insecto (más oscuro, más tiempo) (Figura 19).



Figura 19. Elementos requeridos para el montaje de trips en capsulas de porcelana.

Por otro lado, se colocó una gota de bálsamo de Canadá en un portaobjetos en donde se realizó el montaje del insecto (Figura 20), extendiendo correctamente alas y antenas.

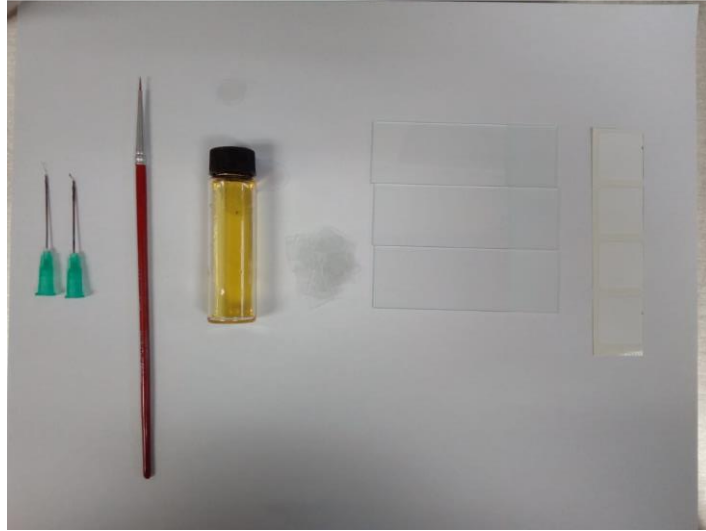


Figura 20. Portaobjetos con gota de bálsamo de Canadá

El montaje se protegió con un cubreobjetos y se etiquetó debidamente (Figura 21).

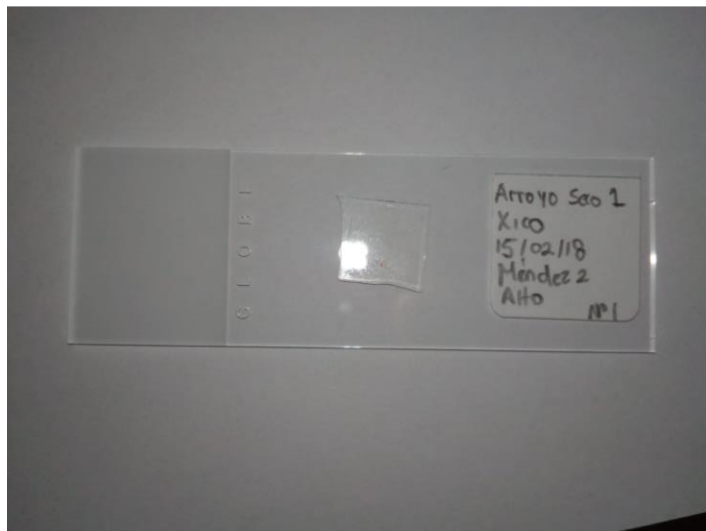


Figura 21. Portaobjeto debidamente etiquetado

Con ayuda de un microscopio y claves especializadas para la identificación morfológica de trips, los montajes fueron revisados e identificados a nivel de género y especie.

5.5. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

A partir de los insectos colectados en los criaderos se extrajo el ADN siguiendo el protocolo descrito por Rugman-Jones et al. (2006). Este protocolo consiste en colocar en un tubo de 1.5 mL un ejemplar y tritularlo con ayuda de un homogeneizador y nitrógeno líquido, agregar al tubo buffer de lisis con dodecil sulfato de sodio y proteinasa K, precipitar proteínas con cloruro de sodio y recuperar el ADN extraído. Con el ADN obtenido se amplificó el marcador molecular Citocromo Oxidasa I (COI) a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo con el protocolo descrito por Glover et al. (2010). La PCR se realizó con 4 µL del ADN, 1 µL de dNTP's (10mM), 2 µL de buffer de Cloruro de Magnesio (MgCl₂, 25µM), 3 µL de los cebadores (10µM; MTD7.2F: ATTAGGAGCHCCHGAYATAGCATT; MTD9.2R: AGGCAAGATTAAAATATAAACTTCTG), 10µL de buffer 10X, 0.2 µL de Taq polimerasa (5U/µL) y 34.3 µL de agua por reacción de 50 µL. Las condiciones de la reacción fueron: desnaturalización a 95°C por 3 min, 25 ciclos de desnaturalización a 95°C por 1 min, alineamiento a 50°C por 1 min y elongación a 72°C por 1 min, y una extensión final a 72°C por 10 min. El tamaño e integridad de los productos de la PCR (amplicones) fueron verificados con electroforesis en gel de agarosa 1%. Los amplicones se purificaron y se enviaron a secuenciar. Las secuencias obtenidas se editaron y se analizaron para compararlas con bases de datos y determinar la identidad de los trips en los criaderos establecidos.

5.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

El siguiente ensayo se divide en dos fases en los cuales se desarrolló un Diseño Completamente al Azar (DCA) en cada uno.

Fase 1. Se buscó establecer el alimento y jaula adecuados para luego determinar variables como el número de insectos, la fase en que se encuentra y la supervivencia.

Fase 2. Teniendo el alimento y la jaula determinados de la fase 1, se buscó realizar la reproducción masiva, teniendo en cuenta variables como temperatura, horas luz, número de días para cambio de alimentación, etc.

5.7. MODELO ESTADÍSTICO

En este estudio no existe una estadística compleja, puesto que, hay una determinación de un ambiente óptimo para la cría masiva de trips. Por lo que se utilizó una estadística descriptiva.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. FASE 1. SELECCIÓN DE JAULA Y FUENTE DE ALIMENTO

Loomans & Murai (1997) criaron trips en varios estilos de jaulas usando plantas enteras y partes de plantas como alimento. Los alimentos comúnmente usados incluyen habas germinadas, cotiledones de frijol (Murai & Loomans 2001), plantas enanas de frijol francés, vainas de frijol verde y hojas de frijol (Steiner & Goodwin 1998). En esta fase se evaluaron siete fuentes de alimento y el recipiente adecuado para poder mantener un microclima en donde el insecto logre su reproducción y se facilite su conteo.

López-Olgún et al (2007) proponen unidades de cría con frascos de PVC transparentes de 4,5 cm de altura x 3,8 cm de diámetro a los que se les realiza una abertura en cada lado de 5 mm de largo y 5 mm de ancho. Estas unidades de cría fueron modificadas y se utilizaron como jaula tipo 1 para evaluar 3 fuentes de alimentación (pellets, ejotes y plántulas de frijol con espuma). La jaula fue propicia por el fácil acceso a los insectos y por el adecuado microclima que se crea.

El uso de pellets como fuente de alimentación se realizó sin ser consultada con medios bibliográficos. La idea se realizó utilizando como atrayente el dulzor de la miel. Esta fuente de alimentación no funcionó debido a que de las 4 repeticiones que se realizaron, 3 de ellas tenían la población totalmente muerta el segundo día. Aunque esta prueba se realizó con total asepsia debido a que los frascos, las pinzas y el resto del material utilizado se limpian con alcohol y son esterilizados antes de usarse para reducir la contaminación de hongos y de otros insectos, los pellets el segundo día se encontraban completamente llenos de hongo, causando la muerte a los insectos.

Por otra parte, se eligieron ejotes como fuente de alimentación para los trips y soporte para la puesta, como una modificación a la metodología seguida por Steiner & Goodwin (1998). La fuente de alimento es la indicada debido a que el

número de individuos obtenidos aumento. Se encontraron los adultos aún vivos y nuevas larvas.

Sin embargo, la humedad del ejote ocasiona que algunas ninfas no se puedan desplazar y por eso fue necesario cambiar esta fuente de alimento cada dos días.

Como ultima fuente de alimentación para la jaula tipo 1 se utilizaron plántulas de frijol con espuma en donde se realizó una modificación de Espinosa et al (2002) y el primer método usado por Steiner & Goodwin (1998). Debido a que se utiliza esponja de poliuretano y plantas enanas de frijol respectivamente, al unir estas dos metodologías, se pudo obtener de las 4 repeticiones, 2 contenían más de la mitad de la población de insectos muerta y las otras 2 repeticiones con menos de la mitad de la población muerta, se identificó que la muerte de los adultos se ocasionaba debido a que los adultos se quedaban en los orificios de la esponja y no se trasladaban a la planta.

Para la jaula tipo 2 se realizó una modificación del método usado por Steiner & Goodwin (1998). Para este tipo de jaula las condiciones ambientales fueron satisfactorias, no obstante, el tamaño de la jaula dificultó la búsqueda de los insectos y al abrirla muchos de ellos podían escapar. Por lo tanto esta jaula fue descartada para ensayos posteriores. Para estos ensayos se utilizó como fuente de alimento plántulas de frijol con sustrato, con esta jaula se realizó una modificación del método usado por Steiner & Goodwin (1998). Debido a que en su experimento usan agua como sustrato, en este experimento se buscaba el desarrollo de la plántula en sustrato peat moss y vermiculita 2:1 con el objetivo de que la planta se desarrollara conforme a la medida de la jaula. El método descrito aquí no es el conveniente para la crianza de trips debido al gran tamaño de la jaula y la perdida de insectos en el sustrato.

En el ensayo con la jaula tipo 3 se utilizaron botes que fueron modificados de la jaula tipo 2, el tamaño de la jaula dificultaba encontrar los insectos y manipularlos sin que se escaparan. Por lo tanto esta jaula fue descartada luego de la evaluación de la fuente de alimento. El polen se utilizó como fuente alternativa o suplementaria

del alimento en la jaula tipo 4 pero para esta prueba el polen se usó como fuente principal de alimento, debido a que se vio un comportamiento de atracción de los trips. Sin embargo el comportamiento de los trips con el polen funciono durante 2 días debido a que el tercer día los trips se encontraron muertos.

El tipo de jaula 4 fue una modificación del método de DeGraaf y Wood (2009), donde proponen una metodología con una jaula con cajas de plástico, con la modificación se obtuvieron cajas con un microclima y aireación adecuada para la cría de trips, pero el tamaño de la apertura de la caja a la hora de cambiar el alimento facilitaba que los insectos se escaparan. Para esta jaula se utilizó como fuente de alimento el pepino, pero la humedad de la fuente de alimento dificultaba la movilidad de los insectos y era susceptible al ataque de hongos. Debido a esto el pepino debía ser cambiado diariamente, dificultando el conteo y desarrollo de los insectos. Por lo tanto esta fuente de alimentación fue descartada.

Por último la jaula tipo 5 se realizó al observar que la jaula tipo 1 funcionó adecuadamente. Para esta jaula se eligieron ejotes como fuente de alimentación para los trips y soporte para la puesta, como una modificación a la metodología seguida por Steiner & Goodwin (1998).

La fuente de alimento es la indicada debido a que el número de individuos obtenidos aumentó.

Se realizaron 4 repeticiones por cada fuente de alimentación observando que la fuente de alimentación óptima es el ejote (Tabla 3)

Tabla 3. Prueba Fuentes de Alimento

Prueba fuentes de alimento																					
repetición/fuente	pellets			polen			frijol			pepino			ejotes			espuma P			espuma G		
	+	-	m	+	-	m	+	-	m	+	-	m	+	-	m	+	-	m	+	-	m
1			x			x			x			x	x					x		x	
2			x			x			x			x	x				x			x	
3		x				x			x			x	x				x				x
4			x			x		x				x	x					x		x	
total	0	1	3	0	0	4	0	1	3	0	0	4	4	0	0	0	2	2	0	3	1

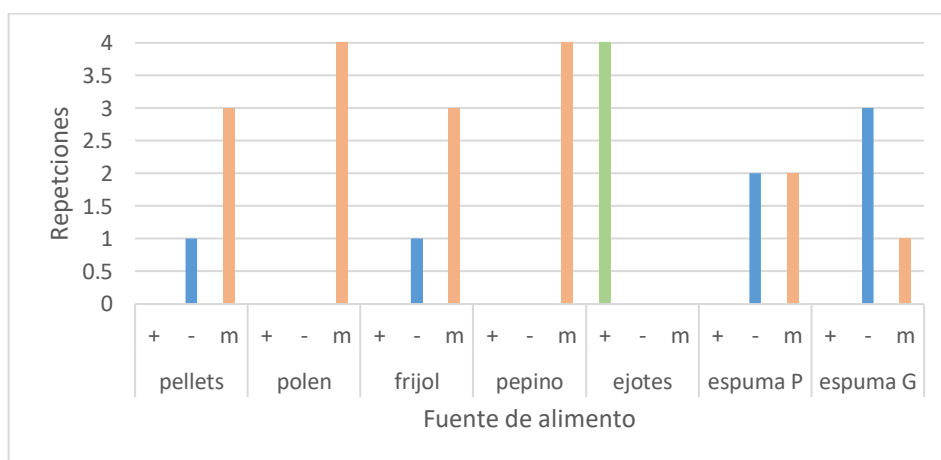


Figura 22: Prueba Fuentes de Alimento.

+ Más de la mitad de los insectos vivos, **-** Menos de la mitad de los insectos vivos, **m** Insectos totalmente muertos.

Se observó como resultado (Figura 22) que la única fuente de alimento que logro obtener nuevas fases de trips y que logra mantener vivos los insectos son los ejotes, por lo tanto es la fuente de alimento que se utilizó para realizar la cría masiva.

6.2. FASE 2. CRÍA MASIVA DE TRIPS.

A partir de la identificación de la fuente de alimento apropiada para la reproducción de los trips, se realizó una prueba inicial con un conteo específico de ninfas, pupas y adultos, donde se colocaron 4 trips adultos en la jaula y durante 4 semanas se realizó cambio de ejotes y conteo (Tabla 4).

Las jaulas que se utilizaron fueron colocadas en una cámara de fotoperiodo de 16:8, con una temperatura aproximada de 22°C a 25°C.

Tabla 4 Prueba inicial con ejotes

EJOTES (Prueba inicial)					
FECHA	REPETICIÓN	N° insectos/jaula			
		N	P	A	M
20/04/2018		0	0	4	0
23/04/2018	1	0	0	4	0
24/04/2018	2	0	0	4	0
26/04/2018	3	6	0	4	0
30/04/2018	4	11	0	0	0
3/05/2018	5	25	6	3	0
7/05/2018	6	3	13	11	6
11/05/2018	7	2	1	14	10
14/05/2018	8	18	0	14	1
16/05/2018	9	15	1	13	3
22/05/2018	10	22	9	21	2

En la tabla 3 se observa como la cantidad de trips aumentó y gracias a la fuente de alimentación y el tipo de jaula, se pudo realizar un conteo exacto de insectos y la fase en que se encontraba cada uno.

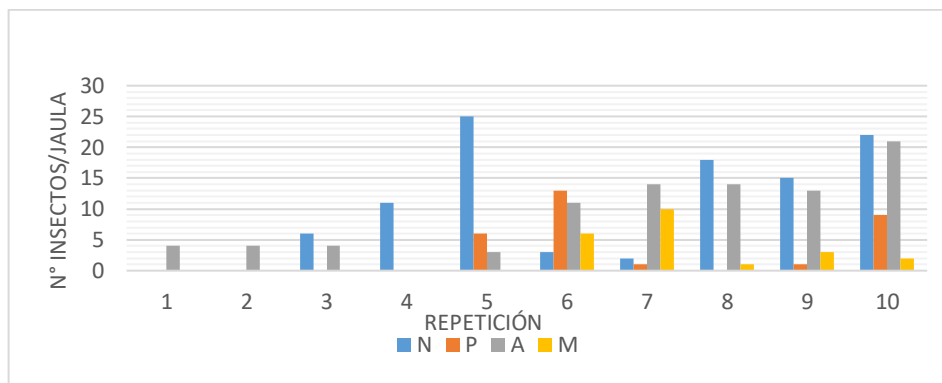


Figura 23: Prueba de ejotes.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de los insectos vivos por cada jaula.

N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos de la tabla N° 3.

Al ver resultados en la reproducción de los trips en las jaulas tipo 1, se decidió realizar 5 Jaulas con 10 repeticiones clasificándolo en ADULTOS Y NINFAS

- ADULTOS:

Se colocaron 10 adultos por cada jaula para poder observar el número de días que sobrevivían y el número de días en que aparecía una nueva fase del insecto (Tabla 5).

Tabla 5. Jaulas con población inicial de adultos

		# JAULA																			
		1				2				3				4				5			
Fecha	Repetición	N	P	A	M	N	P	A	M	N	P	A	M	N	P	A	M	N	P	A	M
23/04/2018		0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0
25/04/2018	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0
27/04/2018	2	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0	10	0	0	0	10	0	1	0	8	2
30/04/2018	3	86	2	8	2	84	14	7	3	40	2	9	1	8	3	0	10	6	0	0	10
2/05/2018	4	7	31	6	52	18	37	6	44	6	14	5	26	0	4	0	1	2	1	0	3
4/05/2018	5	3	1	29	7	22	5	20	18	6	3	9	7	0	0	1	1	0	0	1	2
7/05/2018	6	3	1	20	9	16	4	10	17	3	1	8	6	0	0	0	1	0	0	0	1
9/05/2018	7	37	0	18	2	16	0	8	0	3	0	5	4								
11/05/2018	8	44	18	19	4	0	0	0	24	2	4	3	2								
14/05/2018	9	39	23	16	3					0	2	6	1								
16/05/2018	10	32	21	18	7																

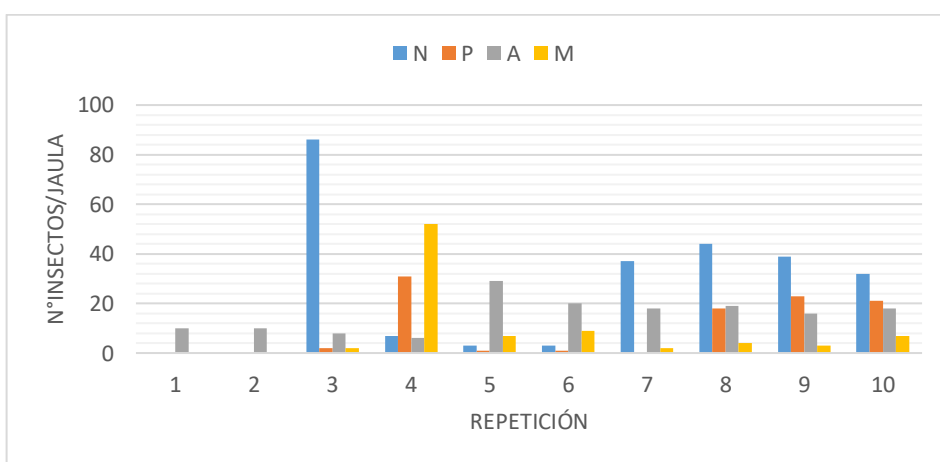


Figura 24: Interpretación de los datos Jaula 1 de Adultos.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 1.

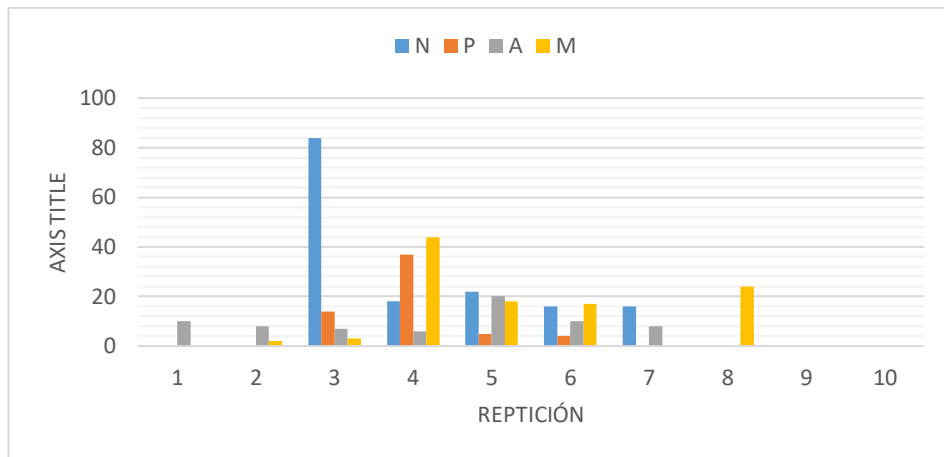


Figura 25. Interpretación de los datos Jaula 2 de Adultos.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 2.

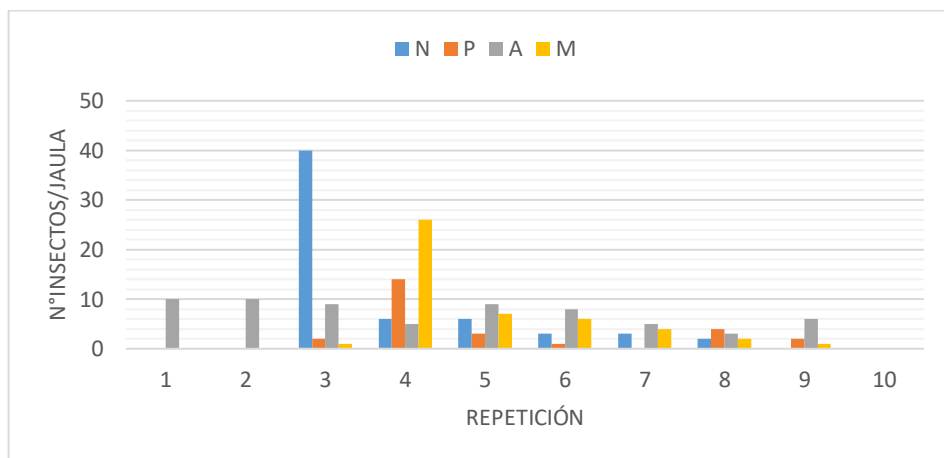


Figura 26. Interpretación de los datos Jaula 3 de Adultos.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 3.

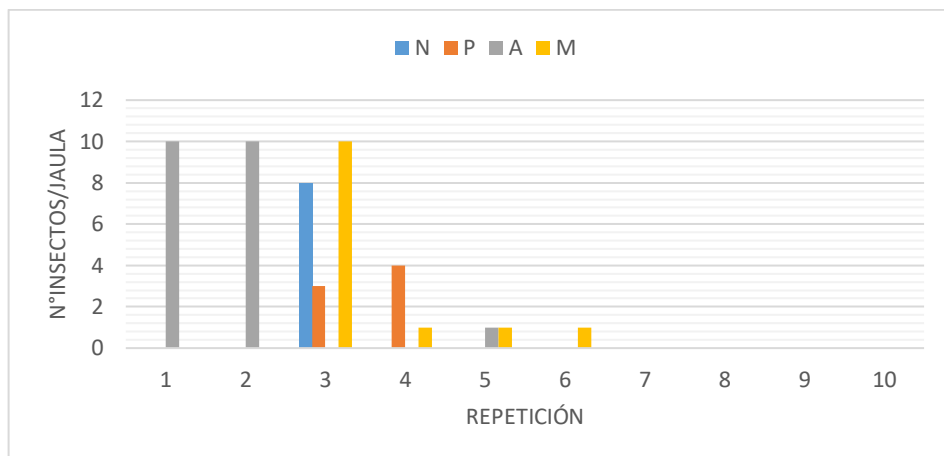


Figura 27. Interpretación de los datos Jaula 4 de Adultos.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 4.

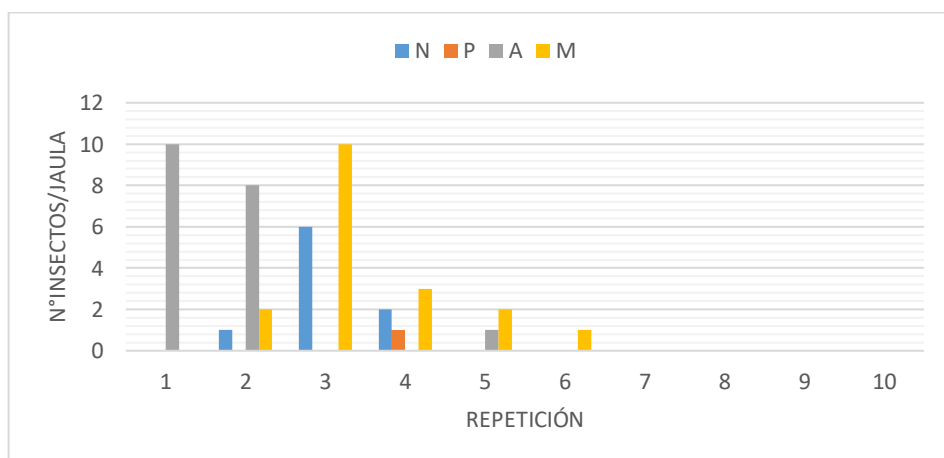


Figura 28. Interpretación de los datos Jaula 5 de Adultos.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 5.

- **NINFAS:**

Se colocaron 15 ninfas por cada jaula para poder observar el número de días que sobrevivían y el número de días en que aparecía una nueva fase del insecto (Tabla 6).

Tabla 6. Jaulas con población inicial de ninfas.

FECHAS	Repetición	# JAULA															
		1				2				3				4			
		N	P	A	M	N	P	A	M	N	P	A	M	N	P	A	M
23/04/2018		15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0
25/04/2018	1	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0
27/04/2018	2	10	4	0	1	8	7	0	0	11	4	0	0	7	2	0	6
30/04/2018	3	4	6	4	0	0	2	11	1	3	1	5	6	0	1	2	6
2/05/2018	4	0	1	4	1	0	0	7	4	0	2	6	0	0	0	3	0
4/05/2018	5	13	0	4	1	45	0	5	2	14	0	5	1	5	0	3	0
7/05/2018	6	7	4	2	8	16	24	4	5	6	7	3	4	3	0	1	6
9/05/2018	7	4	1	5	3	1	0	9	1	7	6	1	3	0	0	0	4
11/05/2018	8	1	3	5	1	12	11	1	1	9	2	7	6				
14/05/2018	9	4	3	5	1	1	11	9	3	5	8	8	2				
16/05/2018	10	4	0	7	1	15	2	17	1	7	8	5	3				

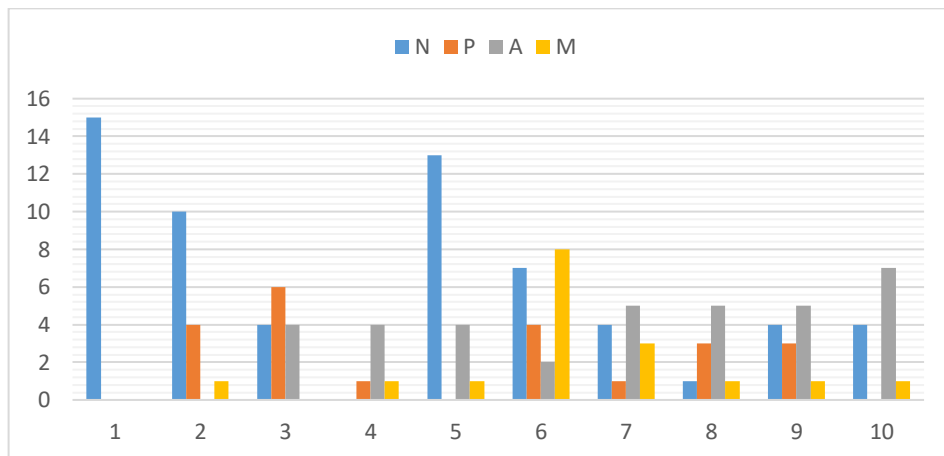


Figura 29. Interpretación de los datos Jaula 1 de Ninfas.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 1.

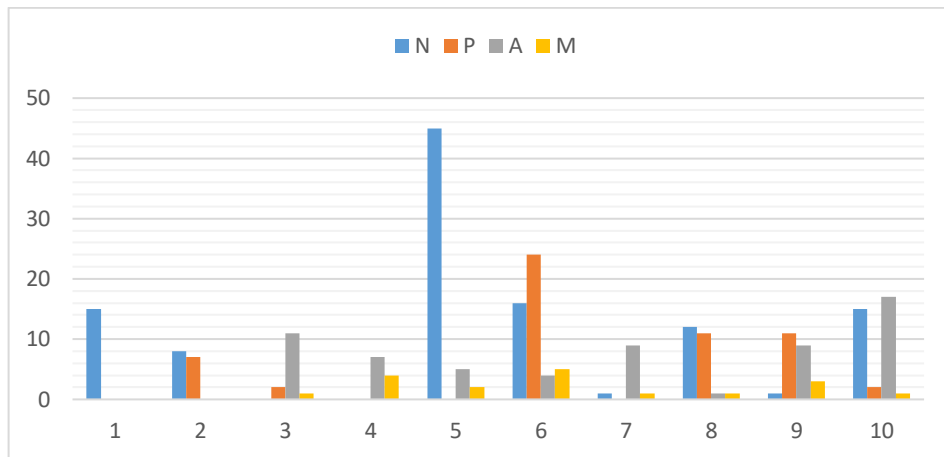


Figura 30. Interpretación de los datos Jaula 2 de Ninfas.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 2.

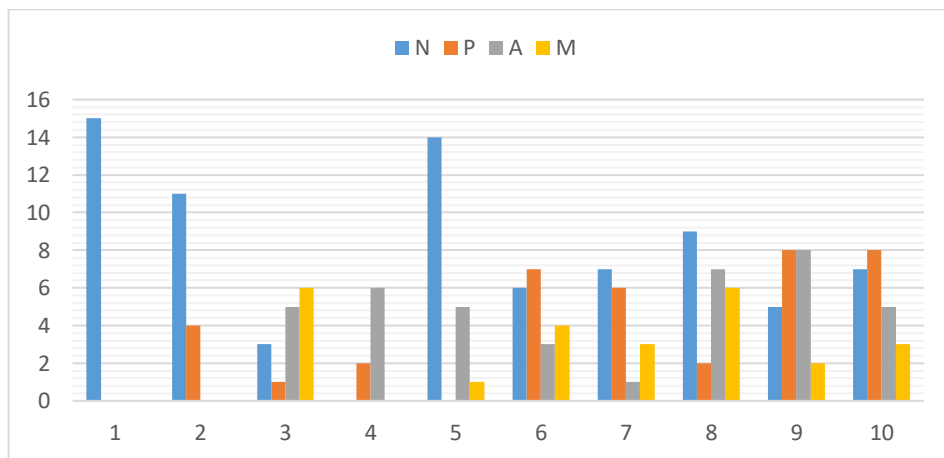


Figura 31. Interpretación de los datos Jaula 3 de Ninfas.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 3.

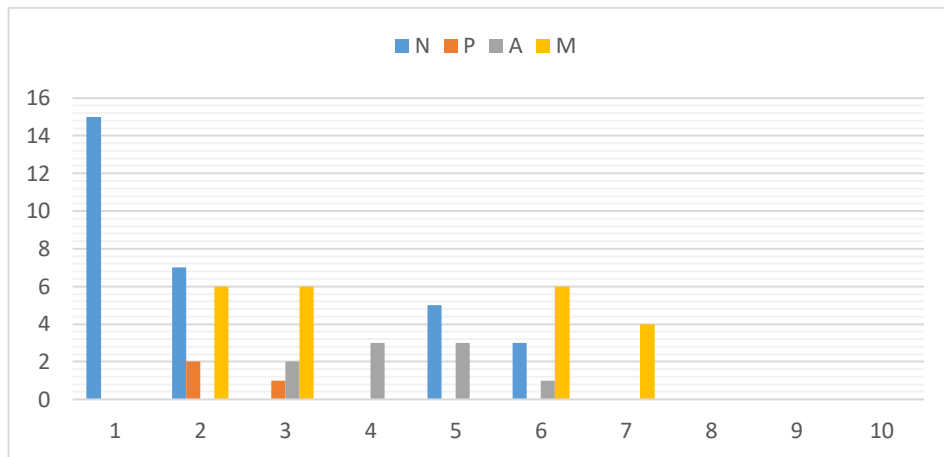


Figura 32. Interpretación de los datos Jaula 4 de Ninfas.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 4.

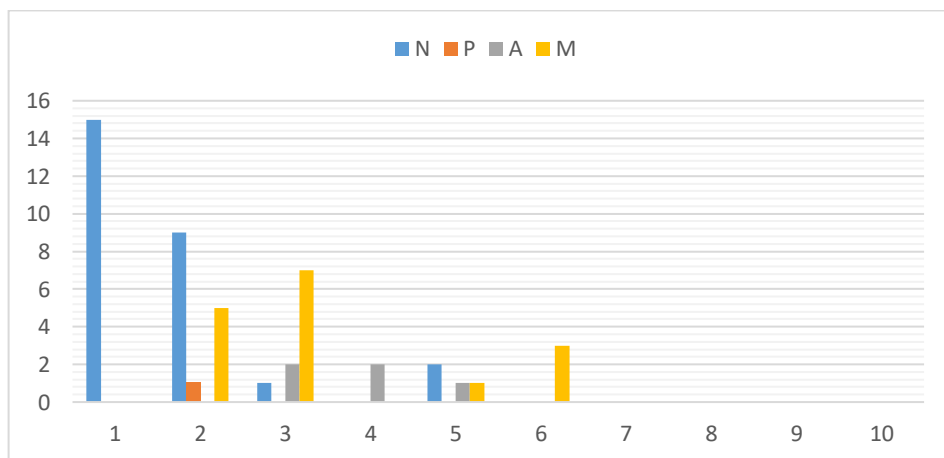


Figura 33. Interpretación de los datos Jaula 5 de Ninfas.

Interpretación de los datos obtenidos a partir de cada estado del ciclo de vida. N: ninfa, P: pupa, A: adulto, M: muertos, de las 10 repeticiones de la jaula 5.

6.3. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE INSECTOS EN CRIADERO

Una vez que se seleccionaron el tipo de jaula y la fuente de alimentación más adecuados para la cría de los trips, así como las condiciones óptimas, los insectos colectados en campo mensualmente fueron utilizados para mantener los criaderos establecidos. Es importante mencionar que, los insectos traídos de campo fueron colocados en nuevas jaulas en cada ocasión, para no combinarlos con los insectos presentes en criaderos ya establecidos. Esto nos permitió tener insectos que fueron generados exclusivamente en el criadero, los cuales se caracterizaron morfológica y molecularmente. Para la identificación a nivel de especie de los trips generados en criadero, se utilizaron insectos de la quinta generación o posterior. Se colectaron al menos 10 ejemplares de trips por jaula, que fueron utilizados simultáneamente para la identificación morfológica y molecular, de acuerdo con la metodología descrita en los apartados 5.4 y 5.5. A partir de los resultados obtenidos, se determinó a nivel morfológico y molecular, que la especie de trips presente en los criaderos después de la quinta generación fue *Frankliniella gardeniae*. La presencia de una única especie dentro de los criaderos de quinta generación o posterior resulta de interés, ya que en campo las especies más abundantes en todos los sitios de colecta fueron *F. gardeniae* y *Scirtothrips perseae* (datos internos del laboratorio). Las condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de ambas especies son diferentes, mientras que *S. perseae* está adaptada a ambientes de gran altitud y bajas temperaturas *F. gardeniae* se presenta en ambientes de altitud media a baja y temperaturas superiores a los 22°C. Es decir, las condiciones establecidas para los criaderos a nivel de laboratorio fungieron como una criba entre ambas especies, resultando favorables únicamente para la crianza y mantenimiento de *F. gardeniae*.

7. CONCLUSIONES

El método descrito usando ejotes como fuente de alimentación y sustrato de puesta, en las condiciones descritas anteriormente presenta ventajas de altos rendimientos, facilidad de manejo, obtención de individuos de edad conocida y bajo costo.

Las condiciones establecidas para los criaderos a nivel de laboratorio resultaron favorables únicamente para la crianza y mantenimiento de *F. gardeniae*, sin embargo conociendo las condiciones ambientales para la cría de *S. perseae* se pueden realizar modificaciones a la metodología y obtener individuos de esta especie.

8. RECOMENDACIONES

- La cría masiva debe tener las condiciones adecuadas de temperatura (22°C a 25°C), humedad del 70% y fotoperiodo de 16:08 (luz-oscuridad). Se debe mantener la cámara desinfectada para disminuir la contaminación.
- Para la manipulación de los trips se recomienda utilizar el pincel con 4 a 5 pelos, esto con el objetivo de poder manipular los huevos y las ninfas sin maltratarlas.
- Los ejotes utilizados para las pruebas se deben conseguir frescos, para dar mayor duración en el laboratorio y para que los insectos tengan mayor tiempo para su cambio de fase.
- Es necesario esterilizar los ejotes, remojándolos en agua durante 15 minutos, desinfectarlos en agua más cloro 2% durante 5 minutos, enjuagarlos y finalmente sumergidos en solución azucarada 5% para mayor atracción de trips.
- El material utilizado como jaulas, pinzas, pinceles, etc, deben ser esterilizados antes y después de su uso.

9. BIBLIOGRAFIA

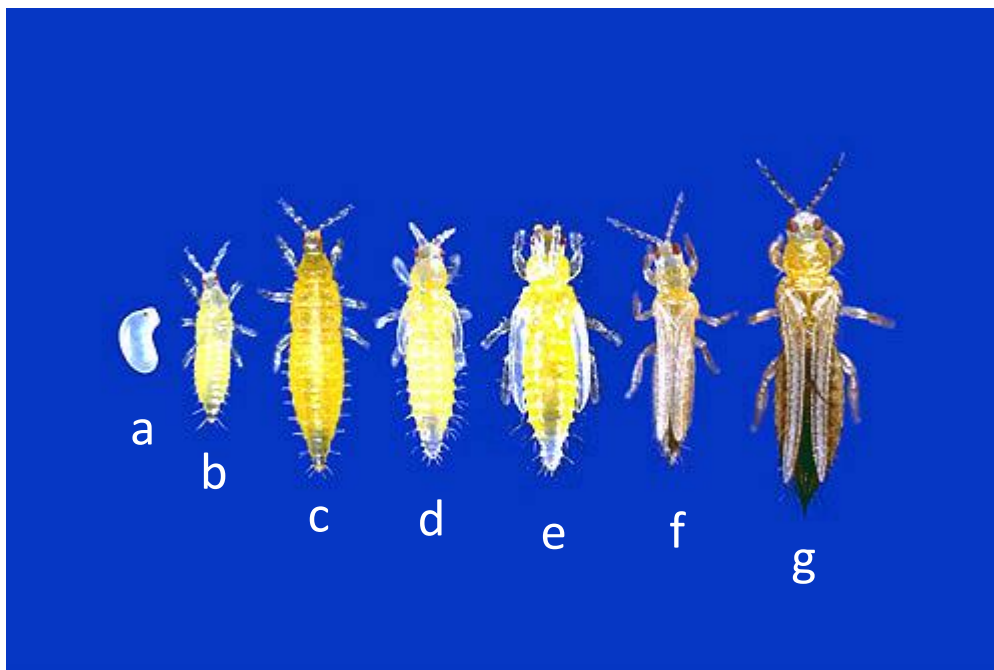
- Ascensión, G., Bravo, H., González, H., Johansen, R., Becerri, R. (1999). Fluctuación poblacional y daño por trips en aguacate cv. Hass. Revista Chapingo (Serie Hortícola) Pág. 291-296.
- Bañon, A., Cifuentes, R., Fernandez, H., Gonzales, B. (1993). Gerbera, Liliun, Tulipan y Rosa. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pág. 250
- Bernal, J; Díaz, C; Osorio, C; Tamayo, Á; Osorio, W; Córdoba, Ó; Londoño, M. (2014). Actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de aguacate. Medellín, Colombia: CORPOICA
- Bisonó & Hernández. (2008). Guía tecnológica sobre el cultivo de aguacate. Santo Domingo. Pág. 7
- Bryan & Smith. (1956). The *Frankliniella occidentalis* (Pergade) complex in California (Thysanoptera: Thripidae). Publication in Entomology. University of California. Pág. 356-410.
- Coronado & Márquez. (1976). Introducción a la entomología, morfología y taxonomía de los insectos. Ed. Limusa. México. Pág. 286
- Dinero. (2017). Aguacate: el oro verde de la economía colombiana. Recuperado de: <https://www.dinero.com/edicion-impresas/informe-especial/articulo/aguacate-exportacion-y-mercado-en-colombia/243434>. Consultado: 05/06/2018
- EL FINANCIERO. (2017). 3 gráficas para entender la importancia del aguacate para México. Recuperado de: <http://www.elfinanciero.com.mx/rankings/la-importancia-del-aguacate-para-mexico-en-graficas>. Consultado: 10/04/2018
- González, H., Johansen, R., Gasca, L., Equihua, A., Salinas, A., Estrada, E. (2000). El Aguacate y su Manejo Integrado. México: Mundi Prensa México, S. A. de C. V. Pág. 121-177

- HASS-PRO. (2015). Planta de aguacate. Recuperado de: <http://www.hass-pro.com/pdfs/plantas-de-aguacates.pdf>. Consultado: 08/06/2018
- INTAGRI. 2015. Manejo de Trips en el Cultivo de Aguacate. Serie Frutales Núm. 07. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 7 p. Recuperado de: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/manejo-trips-cultivo-aguacate>. Consultado: 08/06/2018
- Johansen & Mojica. (1996). Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una Síntesis de su Conocimiento. Ed. Primera Edición. Universidad Autónoma de México. México.
- Laboratorio de Investigaciones Entomológicas y Tecnológicas en Agricultura de Precisión. (2011). Distribución espacial del Trips. Guía del cultivo de Aguacate. Guatemala. Pág. 15.
- Lewis, J. (1968). The thrips or Thysanoptera of Illinois. Pág. 245 p.
- Lewis, T. (1973). Thrips, their Biology, Ecology and Economic Importance. Academic Press, London. Pág. 349
- Lino, B., Contreras, J., Lacasta, P., Sánchez, S. (1998). Orden Thysanoptera. Entomología agroforestal (Insectos y ácaros que dañan montes, cultivos y jardines). México. Pág. 1309.
- Loomans & Murai. (1997). Thrips as Crop Pests. CAB International, Wallingford and New York. Pág. 477–503.
- Marroquín, F. (1999). Factores que favorecen la incidencia de la roña *Sphaceloma perseae* Jenk. en el cultivo del aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad “Hass” en tres regiones agroclimáticas de Michoacán. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 309-312. Uruapan, Mich: Nota Científica

- Mound, L., & Marullo, R. (1996). The Thrips of central, and South América: An introduction (Insecta:Thysanoptera). Florida, USA: Memoirs on Entomology, International. Pág. 487.
- Morales, R. (2007). Preferencia del tipo de flor para *Frankliniella bagnalliana* (Thripidae: Terebrantia). Ecología y evolución. Pág. 27-32
- Rugmasn, J., Hoddle, M., Mound, L. (2006). Molecular identification key for pest species of *Scirtothrips* (Thysanoptera: Thripidae). Entomological Society of America. Pág. 1813-1819
- SAGARPA. (2015). Planeación agrícola nacional 2017-2030. Recuperado de: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf>. Consultado: 10/05/2018
- SAGARPA. (2015). México, productor número 1 del fruto en el mundo MICHOACÁN APORTA EL 85.9% DEL AGUACATE EN EL PAÍS. Recuperado de: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/michoacan/boletines/2015/marzo/Documents/B0342015.PDF>. Consultado: 09/04/2018
- SAGARPA & SIAP. (2017). Atlas Agroalimentario 2017. Recuperado de: <http://online.pubhtml5.com/clsi/ibhs>. Consultado: 09/04/2018
- SAGARPA. (2018). SAGARPA. Recuperado de: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/bajacaliforniasur/boletines/2018/enro/Documents/2018BS031.pdf>. Consultado: 09/04/2018
- SIAP. (2009). Guía Técnica Aguacate de Michoacán. Recuperado de: http://www.aguacatesdemichoacan.com/descargables/guia_tecnica_aguacate.pdf. Consultado: 09/04/2018
- Stannard, L. (1968). Los trips o Thysanoptera de Illinois. Boletín estudio de historia natural. Illinois. Pág. 215-255
- Vásquez, V. (2013). Control de trips (*Frankliniella occidentalis*) mediante la aplicación de tres extractos botánicos en el cultivo de rosas (*Rosa sp.*) variedad


Mohana. Tesis Lic. Cayambe, Pichincha, Universidad Central del Ecuador,
Facultad de Ciencias Agrícolas. Pág. 119.

10. ANEXOS



Anexo A: Ciclo biológico de trips

a) Huevo, b) Larva I, c) Larva II, d) Pre-pupa, e) Pupa, f) Adulto Macho, g) Adulto Hembra.

	UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	CÓDIGO: FO-DOC-97	
		VERSIÓN: 02	PÁGINA: 65 de 65
	PROCESO DOCENCIA	FECHA: 02/09/2016	
	FORMATO AUTORIZACION DE DERECHOS	VIGENCIA: 2016	

FACULTAD CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

AUTORIZACIÓN

Yo Leidy Yurany Salazar López, mayor de edad, vecino de Bogotá D.C., identificado con la Cédula de Ciudadanía No. 1033.776.305 de Bogotá D.C., actuando en nombre propio en mi calidad de autor del trabajo de tesis, monografía o trabajo de grado denominado CRÍA MASIVA DE TRIPS FITÓFAGOS ASOCIADOS CON EL CULTIVO DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO, hago entrega del ejemplar y de sus anexos de ser el caso, en formato digital o electrónico (CD-ROM) y autorizo a la **UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS**, para que en los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia, con la finalidad de que se utilice y use en todas sus formas, realice la reproducción, comunicación pública, edición y distribución, en formato impreso y digital, o formato conocido o por conocer de manera total y parcial de mi trabajo de grado o tesis.

EL AUTOR – ESTUDIANTE, Como autor, manifiesto que el trabajo de grado o tesis objeto de la presente autorización, es original y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros; por tanto, la obra es de mi exclusiva autoría y poseo la titularidad sobre la misma; en caso de presentarse cualquier reclamación o acción por parte de un tercero en cuanto a los derechos de autor sobre la obra en cuestión, como autor, asumiré toda la responsabilidad, y saldré en defensa de los derechos aquí autorizados, para todos los efectos la Universidad actúa como un tercero de buena fe.

Para constancia, se firma el presente documento en dos (2) ejemplares del mismo valor y tenor en Villavicencio - Meta, a los 23 días del mes de Mayo de dos mil diecinueve (2019).

EL AUTOR – ESTUDIANTE

Firma

Nombre: LEIDY YURANY SALAZAR LÓPEZ

C.C. No. 1033776305 de BOGOTÁ. D.C.